

13.12.2004

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

REC'D 13 JAN 2005

WIPO

PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 2003年11月21日

出 願 番 号
Application Number: 特願2003-391935
[ST. 10/C]: [JP2003-391935]

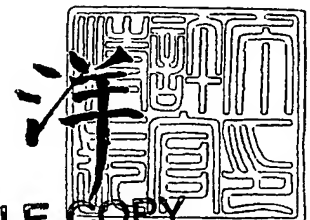
出 願 人
Applicant(s): 帝人株式会社

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年11月17日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小 川



BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 特許願
【整理番号】 P37319
【提出日】 平成15年11月21日
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 A61L 27/00
A61L 31/00

【発明者】
【住所又は居所】 東京都日野市旭が丘 4 丁目 3 番 2 号 帝人株式会社 東京研究センター内
【氏名】 福平 由佳子

【発明者】
【住所又は居所】 東京都日野市旭が丘 4 丁目 3 番 2 号 帝人株式会社 東京研究センター内
【氏名】 伊東 雅弥

【発明者】
【住所又は居所】 東京都日野市旭が丘 4 丁目 3 番 2 号 帝人株式会社 東京研究センター内
【氏名】 兼子 博章

【発明者】
【住所又は居所】 東京都日野市旭が丘 4 丁目 3 番 2 号 帝人株式会社 東京研究センター内
【氏名】 鷺見 芳彦

【発明者】
【住所又は居所】 北海道札幌市北区北 1 2 条西 6 丁目 北海道大学 電子科学研究所 ナノテクノロジー研究センター内
【氏名】 下村 政嗣

【発明者】
【住所又は居所】 北海道札幌市北区北 1 2 条西 6 丁目 北海道大学 電子科学研究所 ナノテクノロジー研究センター内
【氏名】 田中 賢

【特許出願人】
【識別番号】 000003001
【氏名又は名称】 帝人株式会社

【代理人】
【識別番号】 100099678
【弁理士】
【氏名又は名称】 三原 秀子

【手数料の表示】
【予納台帳番号】 206048
【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】
【物件名】 特許請求の範囲 1
【物件名】 明細書 1
【物件名】 図面 1
【物件名】 要約書 1
【包括委任状番号】 0203001

【書類名】 特許請求の範囲**【請求項 1】**

ハニカム構造を有する生分解性フィルムからなる軟骨組織再生用基材。

【請求項 2】

該ハニカム構造を有する生分解性フィルムが生分解性高分子と界面活性剤からなるフィルムであることを特徴とした請求項 1 に記載の軟骨組織再生用基材。

【請求項 3】

該界面活性剤がリン脂質であることを特徴としたハニカム構造を有するフィルムからなる請求項 2 に記載の軟骨組織再生用基材。

【請求項 4】

該リン脂質がホスファチジルエタノールアミン—ジオレオイルであるハニカム構造を有するフィルムからなる請求項 3 に記載の軟骨組織再生用基材。

【請求項 5】

該ハニカム構造の平均空隙内径が $20\ \mu\text{m}$ 以下であることを特徴とする請求項 1～4 のいずれか 1 項に記載された軟骨組織再生用基材。

【請求項 6】

請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載された軟骨組織再生用基材と該軟骨組織再生用基材に担持された軟骨細胞からなる軟骨組織再生用複合体。

【請求項 7】

請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載された軟骨組織再生用基材上で軟骨細胞を培養し、軟骨組織再生用基材上に軟骨細胞が担持された軟骨組織再生用複合体を製造する方法。

【書類名】明細書

【発明の名称】軟骨組織再生用基材および軟骨細胞との複合体とその製造方法

【技術分野】

【0001】

本発明は、軟骨組織を再生させるために使用する軟骨組織再生用基材および軟骨細胞と軟骨組織再生用基材との複合体とその製造方法に関するものである。

【背景技術】

【0002】

軟骨組織は血管、神経、リンパ管が存在しない組織であるため、再生能力が乏しい。したがって一度損傷を受けた部位は再生せず、本来の機能を失ってしまう。臨床的に関節軟骨が欠損する疾患としては、変形性関節症、関節リウマチなどの疾患や、外傷による関節軟骨損傷が知られている。このように再生に乏しい軟骨の修復としては、人工関節置換手術が行われているが、人工関節は金属や高分子ポリマーを使用しているため、磨耗、緩み、感染などといった問題を有している。また、その他の方法としては、軟骨細胞移植が行われているが、軟骨は一度損傷を受けると再生しても繊維軟骨となり、もともとあった硝子軟骨に比べると生化学的にも力学的にも十分でない。そのため、近年再生医療として、細胞の性質を支持するために3次元構造を持つ足場を利用した軟骨細胞移植が盛んに研究されている。

【0003】

このような方法としては、特開2001-293081号公報（特許文献1）に軟骨細胞をコラーゲンゲル中に包埋した軟骨移植用材料が開示されている。しかしながら、コラーゲンは低温にて操作しないとゲル化し細胞と混合することができない、ゲル強度が弱いなどといった問題がある。

【0004】

また、米国特許第6197061号明細書（特許文献2）には軟骨細胞をアルジネート中で増殖させる方法について開示されている。しかしながら、アルジネートは細胞増殖時に使用したのち、分解され、実際には取り出した軟骨細胞を患部へ注入するため、足場としての機能は持っていない。

【0005】

また、特開2001-157574号公報（特許文献3）には、生分解性ポリマーと両親媒性ポリマーからなるハニカム構造フィルムの細胞培養基材について開示されているが、軟骨細胞に関する記載はない。

【0006】

さらに特開2002-335949号公報（特許文献4）には、ハニカム構造フィルムの細胞培養基材を用いて細胞の三次元集合体を形成する方法が記載されているが、この方法は細胞培養基材の両面に細胞を増殖させる方法であり、細胞自身が三次元的に増殖しているものではない。

【0007】

【特許文献1】特開2001-293081号公報

【特許文献2】米国特許第6197061号明細書

【特許文献3】特開2001-157574号公報

【特許文献4】特開2002-335949号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

軟骨再生とりわけ基質の産生に適した軟骨組織再生基材を得るとともに、該軟骨組織再生用基材であるハニカム構造を持つフィルム上に三次元的に軟骨細胞を培養した軟骨細胞と軟骨組織再生基材の複合体を得る。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明者らは、このような要望を考えて、鋭意努力した結果、生体適合性に優れたハニカム構造を有するフィルムを利用することによって、二次元構造でも三次元構造の足場と同様に軟骨組織再生用基材となること、さらに該軟骨組織再生用基材上に軟骨細胞を培養することで三次元的に軟骨組織が増殖した軟骨細胞と軟骨組織再生基材の複合体が得られることを見出し、本発明を完成するに至った。

【発明の効果】

【0010】

本発明の軟骨組織再生用基材は表面がハニカム構造になっているため、細胞接着面が平滑なフィルムに比べて少なく、軟骨細胞は増殖を抑制し、基質を産出し、三次元構造の足場と同様の効果を現す。然しながら軟骨組織再生基材そのものは二次元構造をとるため、細胞の播種が容易であるなど取り扱いやすく、保持される細胞の密度が高まり、軟骨細胞の培養を容易に、かつ効率的に行うことができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0011】

本発明における生分解性フィルムを作製するために用いる生分解性ポリマーとしては、ポリ乳酸、ポリ乳酸-ポリグリコール酸共重合体、ポリヒドロキシ酪酸、ポリカプロラクトン、ポリエチレンアジペート、ポリブチレンアジペートなどの生分解性脂肪族ポリエステル、ポリブチレンカーボネート、ポリエチレンカーボネート等の脂肪族ポリカーボネート等が、有機溶媒への溶解性の観点から好ましい。中でも、ポリ乳酸、ポリ乳酸-ポリグリコール酸共重合体、ポリカプロラクトンが入手の容易さ、価格等の観点から望ましい。

【0012】

本発明に用いるリン脂質は、動物組織から抽出したものでも、また人工的に合成して製造したものでもその起源を問うことなく使用できる。リン脂質としてはホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルコリン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルグリセロールおよびそれらの誘導体からなる群から選択されてなるものを利用することが望ましい。好ましくはホスファチジルエタノールアミンであり、さらに好ましくはL- α -ホスファチジルエタノールアミン-ジオレオイルである。

【0013】

リン脂質を界面活性剤として使用することによって、ハニカム構造フィルムの接触角をリン脂質の濃度によってコントロールすることが可能となり、軟骨細胞の接着にとってより好ましい接触角のハニカム構造フィルムを作製することができる。

【0014】

本発明のハニカム構造を有するフィルムを作製するに当たってはポリマー溶液上に微小な水滴粒子を形成させることが必須であることから、使用する有機溶剤としては非水溶性である必要がある。これらの例としてはクロロホルム、塩化メチレン等のハロゲン系有機溶剤、ベンゼン、トルエン、キシレン等の芳香族炭化水素、酢酸エチル、酢酸ブチル等のエステル類、メチルイソブチルケトン、などの非水溶性ケトン類、二硫化炭素などが挙げられる。これらの有機溶媒は単独で使用しても、又、これらの溶媒を組み合わせた混合溶媒として使用してもかまわない。

【0015】

これらに溶解する生分解性ポリマーとリン脂質両者併せての溶液濃度は0.01から10wt%、より好ましくは0.05から5wt%である。ポリマー濃度が0.01wt%より低いと得られるフィルムの力学強度が不足し望ましくない。又、10wt%以上では溶液濃度が高くなりすぎ、十分なハニカム構造が得られない。又、生分解性ポリマーとリン脂質の組成比は重量比で1:1から1000:1(wt/wt)である。リン脂質が生分解性ポリマーに対して1000分の1以下では均一なハニカム構造が得られず、又、該重量比が1:1以上ではフィルムとしての自己支持性を有しておらず、コストも高く、経済性に乏しいため好ましくない。

【0016】

本発明においては該ポリマー有機溶媒溶液を基板上にキャストしハニカム構造フィルム

を調製するが、該基板としてはガラス、金属、シリコンウェハー等の無機材料、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリエーテルケトン等の耐有機溶剤性に優れた高分子、水、流動パラフィン、液状ポリエーテル等の液体が使用できる。中でも、基材に水を使用した場合、該ハニカム構造体の特徴である自立性を生かすことで、該構造体を単独で容易に基板から取り出すことが出来、好適である。

【0017】

本発明で、ハニカム構造が形成される機構は次のように考えられる。疎水性有機溶媒が蒸発するとき、潜熱を奪う為に、キャストフィルム表面の温度が下がり、微小な水の液滴がポリマー溶液表面に凝集、付着する。ポリマー溶液中の親水性部分の働きによって水と疎水性有機溶媒の間の表面張力が減少し、このため、水微粒子は凝集して1つの塊になろうとし、安定化する。溶媒が蒸発するに伴い、ヘキサゴナルの形をした液滴が最密充填した形で並び、最後に、水が飛び、ポリマーが規則正しくハニカム状に並んだ形として残る。従って、該フィルムを調製する環境としては相対湿度が50から95%の範囲にあることが望ましい。50%以下ではキャストフィルム上への結露が不十分になり、また、95%以上では環境のコントロールが難しく好ましくない。このようにしてできるハニカム構造体中個々のハニカムの空隙内径は0.1から100 μm である。軟骨細胞培養に適した空隙内径としては0.1から20 μm であり、より好ましくは1 μm から15 μm である。このようにして作製したハニカム構造フィルムは、表面がハニカム構造を有し、膜厚が充分厚い場合は、基盤に接していた裏面は孔が貫通していない平らな面となる。また、膜厚が水滴の大きさよりも薄い場合は孔が貫通したフィルムが得られる。使用目的により、貫通または非貫通膜を選択することが望ましい。

【0018】

ハニカム構造フィルム上で培養される軟骨細胞には、硝子軟骨、線維性軟骨、弾性軟骨から得たものを使用する。好ましくは、移植後の修復を理想的に行うためには、非荷重部の軟骨から採取された関節軟骨細胞を用いることである。細胞は、組織から採取された後、常法に従って結合組織などを除去して調製される。または、常法を用いた一次培養によって、予め増殖させた軟骨細胞を用いてもよい。

【0019】

軟骨細胞は、生体軟骨組織をコラーゲナーゼ、トリプシン、プロテアーゼ等の酵素処理により、細胞外マトリックスを分解処理し、次いで血清培地を添加し、遠心して、軟骨細胞を単離する。単離した軟骨細胞を培養フラスコに播き、10%ウシ胎児血清を含有する α -MEM培地で培養する。十分な細胞数になるまで、2~3回継代培養し、この継代培養した細胞をトリプシン処理により回収し、播種用細胞液とする。本発明のハニカム構造フィルムに、軟骨細胞を播種するには、ハニカム構造フィルムを培養液で濡らしておき、このハニカム構造フィルムに上記播種用細胞液を播種することにより行う。

【0020】

本発明の軟骨組織を再生するためのハニカム構造フィルムは、軟骨細胞の場合、上記播種用細胞液を播種した後、さらに、培養液を添加し、 α -MEM血清培地で、37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 インキュベーター内において培養増殖させることにより、当該軟骨組織再生用の複合体を得る。以下、本発明の、軟骨細胞あるいは軟骨細胞に分化する幹細胞を該ハニカム構造フィルムに播種し、軟骨組織を再生するための移植体を得る手法の一例について具体的に述べる。

【0021】

例えば、ボイデンチャンバー内に滅菌済みのハニカム構造フィルムをはさむ。この際、播種される細胞が、ハニカム構造フィルムから漏れ出さないようにするため、ハニカム構造フィルムの縁をゴム等のリングで囲っておくことが望ましい。ハニカム構造フィルムを培養液で濡らしてから、播種用細胞液を播種する。次いで6ウェルプレート内に収め、5% CO_2 、37 $^{\circ}\text{C}$ インキュベーター内で培養をする。次の日培地をすべて吸引し25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のAscorbic Acid入りの培地でボイデンチャンバー内に2ml加えた培地交換を行い、3日から4週間まで静置して培養する。その後、ボイデンチャンバーより

取り出すことにより、軟骨基質の作られた複合体を得ることができる。

【0022】

本発明においてハニカム構造フィルムを使用する利点は、表面がハニカム構造になっているため、細胞接着面が平滑なフィルムに比べて少なく、軟骨細胞は増殖を抑制し、基質を産出し、三次元構造の足場と同様の様子を示すことができることである。よって、ハニカム構造フィルムを使用することで増殖を繰り返すことによる細胞の形態の変化を防止することができ、軟骨基質の産生が乏しい繊維性軟骨細胞が軟骨組織再生用の複合体中に高い割合で混在することを防止することができる。このため、軟骨細胞による軟骨組織の再建をより効率よく行うことができる。

【0023】

また、播種用細胞液がフィルム上からもれず、結果として三次元構造スポンジなどに比べて保持される細胞の密度が高まり、軟骨組織の再生が速やかにかつ効率的に行われることになる。軟骨細胞が担持された複合体をフィルム状のまま用いると、薄い軟骨組織を再生することが可能であるが、図1に示すように、これら細胞細胞が担持された複合体を積層して用いることもできる。この場合において再生される軟骨の厚みは軟骨基質で覆われたハニカム構造フィルムの積層する枚数により調整することができる。各ハニカム構造フィルム上において上記細胞の播種が行われているので、積層されたハニカム構造フィルム中の細胞の密度は、1枚のフィルムによる複合体と変わらず、これを生体内に移植すれば、軟骨組織の再生が良好に行うことができる。

【0024】

また、図2に示すように、軟骨基質で覆われたハニカム構造フィルムをロール状に巻いて、円筒状の形状にすることもできる。この場合においては、再生される軟骨の深さは、ロールの高さで、直径はロールを巻く回数で調整できる。

【0025】

本発明において、ハニカム構造フィルム上で培養するための細胞の播種密度は、細胞の増殖よりも軟骨基質の産生を優先的に行う播種密度が好ましい。このような細胞播種密度にすることによって、培養の開始時から軟骨細胞は軟骨基質の産生を旺盛に行うので、軟骨再生時に必要な量の軟骨基質を効率よく得ることができる。

【0026】

本発明において軟骨細胞の播種密度は、細胞の形態を維持して軟骨基質の産生をより効率よく行わせる観点から、 400 mm^2 の面積に細胞を播種する場合 5×10^4 個/ml $\sim 1 \times 10^6$ 個/ml の範囲、好ましくは、 1×10^5 個/ml $\sim 8 \times 10^5$ 個/ml の範囲とすることができる。

【0027】

この範囲よりも細胞播種密度が低いと、軟骨細胞の増殖の方が軟骨基質の産生よりも優先的に行われ、細胞の形態が変化したり、効率よく十分な量の軟骨基質を産生することがなったりするので好ましくない。また、この範囲よりも細胞播種密度が高いと、軟骨細胞の細胞活性が十分に維持できず、軟骨基質の産生も不十分となるので、好ましくない。

【0028】

細胞培養期間は3日間から4週間の範囲とすることができる。好ましくは5日から3週間の範囲とすることができるが、細胞の播種量によって培養期間を調整することができ、この範囲に限定されるものではない。

【0029】

本発明における軟骨基質は、通常の軟骨細胞が生体内又は培養条件下で産生する物質及び培養条件下で産生される物質のいずれかである。このような物質には、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、ケラタン硫酸などのグリコサミノグリカン (GAG) や、タイプI Iコラーゲンなどが挙げられる。軟骨基質の量は、GAGの定量により測定することができる。

【0030】

このように、本発明による軟骨組織再生用の移植体は、移植時に多くの軟骨細胞と豊富

な軟骨基質を含有しているため、生体との親和性も非常に高く、効率よく軟骨の修復を行うことができる。

【0031】

本発明の軟骨組織再生用の移植体を使用することができる適応症としては、軟骨損傷、離断性骨軟骨炎、変形性関節症、関節リウマチなどが挙げられるが、その範囲に限定されるものではなく、軟骨欠損に起因する疾患全般に適用可能である。

【実施例】

【0032】

以下、実施例により本発明の実施の形態を説明するが、これらは本発明の発明を制限するものではない。

【実施例1】

ポリ乳酸(分子量100000)のクロロホルム溶液(5 g/L)に界面活性剤としてホスファチジルエタノールアミン-ジオレオイルを200:1の割合で混合し、ガラス基板上にキャストし室温、湿度70%の条件下に静置し、溶媒を徐々に飛ばすことでハニカム構造を有するフィルムを調製した。電子顕微鏡写真を図3に示す。

【0033】

【実施例2】

実施例1で作製したハニカム構造フィルムを70%エタノールで滅菌し、滅菌済みのポイデンチャンバー内にフィルムを挿んだ。一方、ウサギ膝関節の軟骨から薄い軟骨片をメスで削りおろし、細かく刻んだ後、0.15 (w/v) %のトリプシンを含有するPBS (一) 中で1時間酵素処理し、さらに0.15 (w/v) %のコラーゲナーゼを含有するPBS (一) 中にて37℃で2時間30分インキュベートした。そして、ポアサイズが70 μmのナイロンフィルターで濾過した濾液を1500 rpmで3分間遠心し、抗生物質と10%ウシ胎児血清を含有するα-MEM血清培地で2回洗浄した後、ウサギ膝軟骨細胞を得た。得られた軟骨細胞をα-MEM血清培地で37℃、5%CO₂ インキュベーター内で培養した。2回継代培養した軟骨細胞を0.25%トリプシン/1mmol EDTA/PBS (一) で剥離・採集し、2×10⁵ cells/ml細胞液を調製した。ハニカム構造フィルムを1mlの培地で濡らしてから、上記の細胞液を1ml播種する。次いで6ウェルプレート内に収め、5%CO₂、37℃インキュベーター内で培養をする。次の日培地をすべて吸引し25 μg/mlのAscorbic Acid入りの培地でポイデンチャンバー内に2ml加えた培地交換を行い、その後、2日おきに培地交換を行い、3週間まで静置して培養した。3日後および10日後に細胞の代謝活性をアラマーブルー法により測定した。培養後、容器から移植体を外し、GAG測定を行った。その結果を表1に示す。

また得られた軟骨細胞と軟骨組織再生用基材との複合体の光学顕微鏡写真を図4に示す。

【0034】

【比較例1】

実施例2と同様の大きさのシャーレ上で同様に軟骨細胞を培養し(単層培養)、3週間培養後GAG測定を行った。その結果を表1に示す。

【0035】

【表1】

細胞あたりのGAG合成量

	GAG contents (μg/μgDNA)
実施例2 (ハニカム構造フィルム)	102
比較例1 (単層培養)	49
比較例2 (アテロコラーゲン)	28

【0036】

ハニカム構造フィルム上では単層培養に比べ、2倍以上のGAG合成が認められた。上

記で述べたようにGAG量は軟骨の基質量を反映しており、実施例2はより軟骨基質を産生していることを示している。

【0037】

[比較例2]

実施例2と同様にウサギ軟骨細胞を取り出し、得られた軟骨細胞を培養液と混合して軟骨細胞浮遊液を作製し、この軟骨細胞浮遊液と同量のコラーゲン（アテロコラーゲン：高研（株））内に 2×10^5 cells/mlの密度になるように包埋した後、培養を開始した。このときコラーゲンの最終濃度は2.4重量%となった。次いで6ウェルプレート内に収め、5%CO₂、37℃インキュベーター内で25μg/mlのAscorbic Acid入りの培地を用い培養をし、3週間培養後GAG測定を行った。その結果を表1に示す。

【0038】

[比較例3]

ポリ乳酸(分子量100000)のクロロホルム溶液(5g/L)に界面活性剤としてL-α-ホスファチジルエタノールアミン-ジオレオイルを10:1の割合で混合し、ガラス基板上にキャストし室温、湿度70%の条件下に静置し、溶媒を徐々に飛ばすことでハニカム構造を有するフィルムを調製した。

得られたキャストフィルム上に、実施例2と同じ条件で軟骨細胞を培養した結果得られた軟骨細胞とキャストフィルムの複合体の光学顕微鏡写真を図5に示す。

3日後および10日後に細胞の代謝活性をアラマーブルー法により測定した。その結果を表2に示す。

【0039】

【表2】

蛍光強度

	3日後	10日後
実施例2	40549	1763476
比較例3	31221	1320767

【0040】

代謝活性試験より、実施例2は比較例3よりもより高い生育性を示すことがわかった。

【産業上の利用可能性】

【0041】

本願発明のハニカム構造を有するフィルムは軟骨組織を再生させるために使用する軟骨組織再生用基材として用いられ、軟骨細胞培養することで軟骨組織の複合体となり、軟骨組織修復のために使用することができる。

【図面の簡単な説明】

【0042】

【図1】本発明の軟骨再生用基材と該基材上に培養された軟骨細胞との複合体の断面図。

【図2】本発明の軟骨再生用基材と該基材上に培養された軟骨細胞との複合体の形状の一例。

【図3】実施例1で得られたハニカム構造を有するフィルムの電子顕微鏡写真である。

【図4】本発明の軟骨組織再生用基材と該基材上に培養された軟骨細胞との複合体の断面の光学顕微鏡写真。

【図5】比較例3で得られた軟骨細胞とキャストフィルムとの複合体の断面の光学顕微鏡写真。

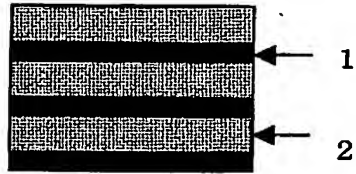
【符号の説明】

【0043】

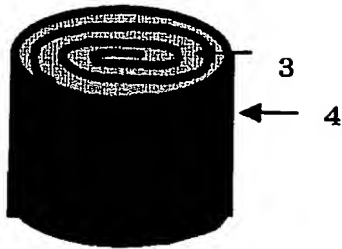
- 1 軟骨細胞
- 2 軟骨組織再生用基材
- 3 軟骨細胞
- 4 軟骨組織再生用基材

【書類名】 図面

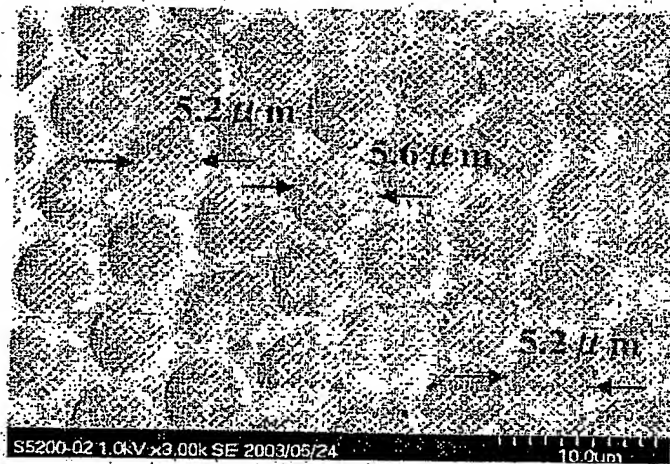
【図 1】



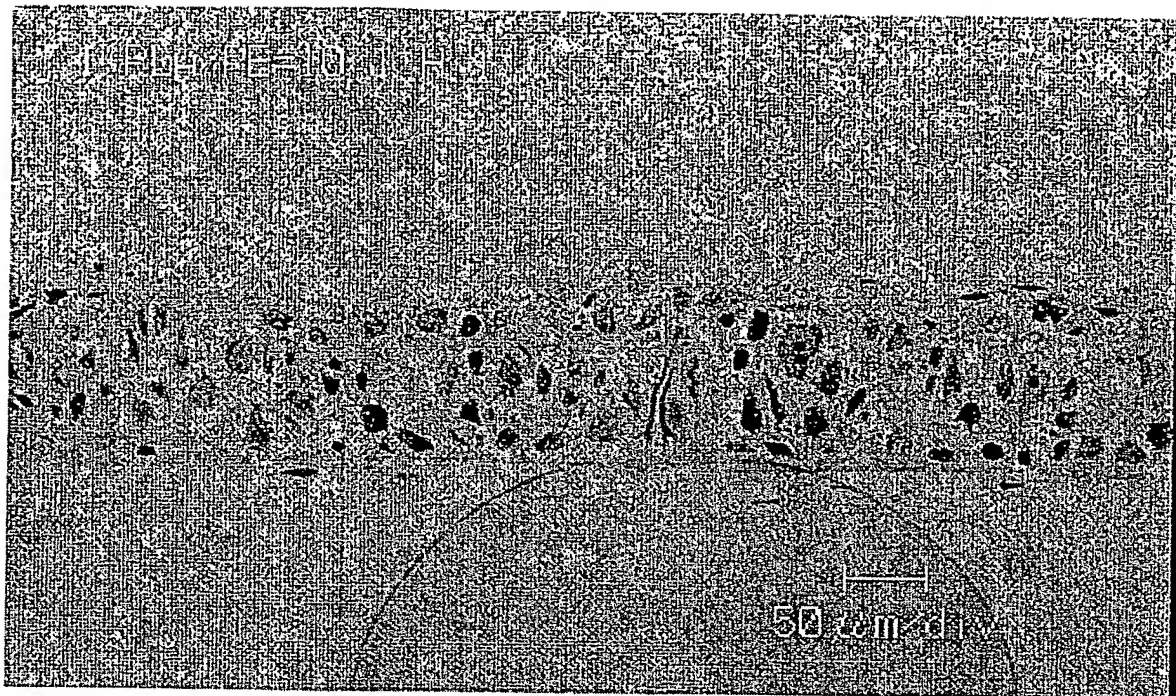
【図 2】



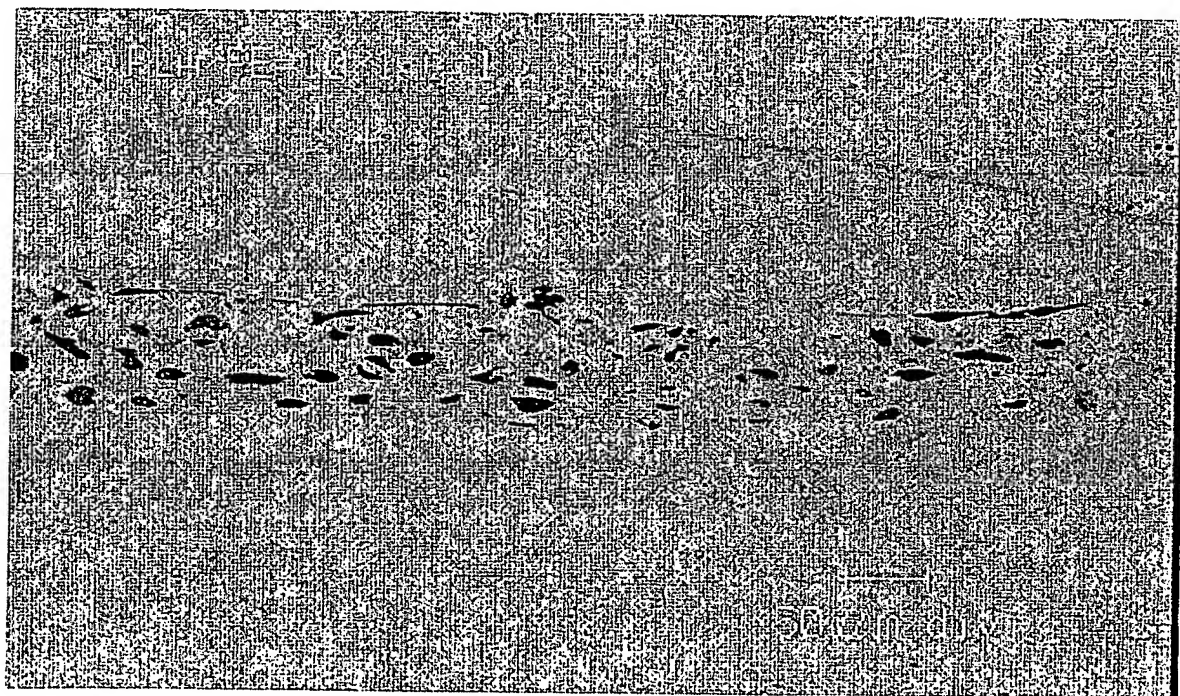
【図 3】



【図 4】



【図 5】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 軟骨再生とりわけ基質の産生に適した軟骨組織再生用基材と、軟骨組織修復に用いられる軟骨細胞と軟骨組織再生用基材との複合体を得る。

【解決手段】 ハニカム構造を有する生分解性フィルムを軟骨組織再生用基材として用い、該軟骨組織再生用基材上に軟骨細胞を培養することで軟骨細胞と軟骨組織再生用基材の複合体を提供する。

【選択図】 図 1

特願 2003-391935

出願人履歴情報

識別番号

[000003001]

1. 変更年月日

1990年 8月28日

[変更理由]

新規登録

住 所

大阪府大阪市中央区南本町1丁目6番7号

氏 名

帝人株式会社

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.